

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНТАКТНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В КОМБИНАЦИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ХЛОРИНОВОГО РЯДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.А. Церковский, Е.Л. Протопович, Д.И. Козловский, В.А. Сулова

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова, Лесной, Республика Беларусь

Резюме

Авторами изучена противоопухолевая эффективность контактной лучевой терапии (КЛТ) в комбинации с фотосенсибилизатором (ФС) хлоринового ряда в эксперименте на лабораторных животных с перевивными опухолями. Работа выполнена на 50 лабораторных животных (белые беспородные крысы) с массой тела 250 ± 50 г. В качестве опухолевых моделей использовали лимфосаркому Плисса (ЛСП) и альвеолярный рак печени РС (РС1), перевитые подкожно. ФС хлоринового ряда фотолон (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) вводился внутривенно капельно в дозе 2,5 мг/кг массы тела. Сеанс КЛТ проводили через 2,5 – 4 ч (в зависимости от опухолевой модели) после введения ФС с использованием аппарата «microSelectron HDR V3 Digital» («Nucletron», Нидерланды) с источником излучения ^{192}Ir в разовых очаговых дозах (РОД) 5 и 10 Гр. Все лабораторные животные, как в подгруппе с ЛСП, так и в подгруппе с РС1, были разделены на 5 групп по 5 особей в каждой: интактный контроль, КЛТ РОД 5 Гр, КЛТ РОД 10 Гр, ФС + КЛТ РОД 5Гр, ФС + КЛТ РОД 10 Гр. На модели ЛСП на 14-е сутки от начала воздействий средний объем опухоли (V_{cp}) в группах составил $26,31 \pm 5,81$; $22,45 \pm 6,97$; $18,99 \pm 4,86$; $10,75 \pm 5,18$ и $28,06 \pm 2,85$ см³, соответственно ($p < 0,05$). Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО) в опытных группах составил 14,67%; 27,82%; 59,14% и - 6,65%, соответственно. Частота полных регрессий опухолей через 60 суток после начала эксперимента составила 0%, 20%, 20%, 60% и 20%, соответственно. На модели РС1 на 14-е сутки от начала воздействий V_{cp} в группах составил $4,48 \pm 1,03$; $0,80 \pm 0,21$; $0,29 \pm 0,09$; $0,19 \pm 0,07$ и $0,32 \pm 0,08$ см³, соответственно ($p = 0,009$). Коэффициент ТРО в опытных группах составил 82,14%; 93,53%; 95,76% и 92,86%, соответственно. Частота полных регрессий опухолей через 60 суток после начала эксперимента составила 0%, 0%, 20%, 0% и 0%, соответственно. Результаты исследования показали, что введение ФС хлоринового ряда перед сеансом КЛТ увеличивает противоопухолевую эффективность лучевой терапии у животных с различными по гистологической структуре и характеру роста перевивными опухолями. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований радиосенсибилизирующих свойств ФС.

Ключевые слова: экспериментальное исследование, лабораторные животные, перевивные опухоли, контактная лучевая терапия, фотосенсибилизатор.

Для цитирования: Церковский Д.А., Протопович Е.Л., Козловский Д.И., Сулова В.А. Противоопухолевая эффективность контактной лучевой терапии в комбинации с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте // Biomedical Photonics. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 25–33. doi: 10.24931/2413–9432–2021–10–2–25–33

Контакты: Церковский Д.А., tzerkovsky@mail.ru

ANTITUMOR EFFICIENCY OF CONTACT RADIOTHERAPY IN COMBINATION WITH A CHLORIN-BASED PHOTOSENSITIZER IN EXPERIMENT

Tzerkovsky D.A., Protopovich Ya.L., Kozlovsky D.I., Suslova V.A.

N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, Republic of Belarus

Abstract

Authors have studied the antitumor efficacy of contact radiation therapy (CRT) in combination with a chlorin-based photosensitizer (PS) in an experiment on laboratory animals with transplanted tumors. The experimental study was performed in 50 white outbred rats weighing 250 ± 50 g. Subcutaneously transplanted Pliss lymphosarcoma (PLS) and alveolar liver cancer RS1 (RS1) were used as tumor models. Chlorin-based PS photolon (RUE «Belmedpreparaty», Republic Belarus) was injected intravenously at a dose of 2.5 mg/kg. The radiation sessions were carried out 2.5–4 hours (depending on the tumor model) after the administration of the PS using the device «microSelectron HDR V3 Digital» («Nucletron», Netherlands) with a ^{192}Ir radiation source in single focal doses 5 and 10 Gy. All laboratory animals (for PLS and RS1) were subdivided into 5 groups of 5 animals each: intact control, CRT 5 Gy, CRT 10 Gy, PS + CRT 5 Gy, PS + CRT 10 Gy. For the PLS tumor model – on the 14th day from the beginning of the experiment V_{av} , in groups were 26.31 ± 5.81 ; 22.45 ± 6.97 ; 18.99 ± 4.86 ; 10.75 ± 5.18 and 28.06 ± 2.85 cm³, respectively ($p < 0.05$). The coefficients of tumor growth inhibition in the experimental groups were 14.67%, 27.82%, 59.14% and 6.65%, respectively. The frequency of complete tumor regressions 60 days after the start of the experiment was 0%, 20%, 20%, 60%, and 20%, re-

spectively. On RS1 tumor model – on the 14th day from the beginning of the experiment V_{av} in groups were 4.48 ± 1.03 ; 0.80 ± 0.21 ; 0.29 ± 0.09 ; 0.19 ± 0.07 and 0.32 ± 0.08 cm³, respectively ($p=0.009$). The coefficients of tumor growth inhibition in the experimental groups were 82.14%, 93.53%, 95.76% and 92.86%, respectively. The frequency of complete tumor regressions 60 days after the start of the experiment was 0%, 0%, 20%, 0%, and 0%, respectively. Systemic administration of chlorin-based PS before the CRT session increases the antitumor efficacy of radiation therapy in animals with transplantable tumors of different histological structure and growth patterns. The data obtained indicate that further studies of the radiosensitizing properties of PS are promising.

Key words: experimental study, laboratory animals, transplanted tumors, contact radiotherapy, photosensitizer.

For citation: Tzerkovsky D.A., Protopovich Ya.L., Kozlovsky D.I., Suslova V.A. Antitumor efficiency of contact radiotherapy in combination with a chlorin-based photosensitizer in experiment // *Biomedical Photonics*, 2021, T. 10, No. 2, pp. 25–33 (in Russian). doi: 10.24931/2413–9432–2021–10–2–25–33

Contacts: Tzerkovsky D.A., tzerkovsky@mail.ru

Введение

Радиомодификаторы в клинической онкологии применяются в лечении пациентов со злокачественными опухолями с целью избирательного усиления противоопухолевого действия лучевой терапии (ЛТ) или ослабления ее отрицательного воздействия на нормальные ткани. В качестве радиомодифицирующих агентов используются электронакцепторные соединения (метронидазол, мезонидазол и др.), гипертермия (общая и локальная), искусственная гипергликемия. Применение радиомодификаторов позволяет повысить радиочувствительность опухолевых клеток, расположенных в гипоксических зонах опухоли, без усиления степени радиационного повреждения нормальных оксигенированных клеток [1].

В конце XX века были опубликованы результаты первых клинических исследований, которые продемонстрировали, что комбинированное использование ЛТ с антиметаболитами (5-фторурацил, метотрексат), статистически значимо улучшает результаты лечения пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи. В качестве физико-химических факторов, модифицирующих радиорезистентность опухолей, применяются цитостатические лекарственные средства, ультразвуковое и лазерное излучения в низкоинтенсивных режимах, магнитные и электрические поля [1].

В последние годы все шире в клинической практике применяется метод фотодинамической терапии (ФДТ) [2–8]. Определенный интерес представляют исследования, направленные на изучение радиосенсибилизирующих свойств фотосенсибилизаторов (ФС), используемых при проведении фотодинамической терапии. Первыми ФС, радиосенсибилизирующая активность которых была доказана в экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, были гематопротеин и фотофрин II [9–11].

Основной научной идеей данного исследования является изучение и доказательство новых свойств

ФС хлоринового ряда фотолон в эксперименте *in vivo* на лабораторных животных с перевивными опухолями. В работе изучена возможность усиления лучевого повреждения перевивных опухолей за счет комбинированного применения ионизирующего излучения и ФС в качестве радиомодификатора.

Исследования в данном направлении проводятся впервые в Республике Беларусь и в странах СНГ. В доступных литературных источниках найдены немногочисленные публикации авторских коллективов из Германии, Литвы и Японии, посвященные изучению радиосенсибилизирующего эффекта ФС (гематопротеин, фотофрин II, 5-аминолевулиновая кислота) [10–13].

Работ, посвященных данному направлению в лечении животных с индуцированными опухолями с применением ФС хлоринового ряда фотолон, не найдено, что делает данное исследование актуальным и перспективным для экспериментальной онкологии.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Пилотное исследование выполнено на 50 белых беспородных крысах обоих полов, полученных из вивария РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, с массой тела от 250 ± 50 г, в возрасте 2,5–3 мес. Длительность карантина перед включением в эксперимент составляла 14 сут. Лабораторные животные содержались в стандартных условиях пищевого и питьевого рациона, при 12-часовом режиме освещения, при температуре $20-22^\circ$ С и влажности 50–60% в индивидуальных клетках по 5 особей в каждой. Показатели влажности, температуры, освещенности в помещении соответствовали действующим санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев [14].

Опухолевые штаммы

В исследовании были использованы опухолевые штаммы (лимфосаркома Плисса, ЛСП) [15] и альвеолярный рак печени РС (РС1) [16], полученные из

Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация).

Опухолевая модель

Опухолевую модель у лабораторных животных создавали путем подкожного пассивирования *in vivo*. Подкожная перевивка включала введение под кожу левой паховой области 0,5 мл 10% взвеси опухолевых клеток в 0,6% растворе Хенкса. Лабораторных животных с ЛСП включали в эксперимент на 7-е сутки после перевивки, с РС1 – на 21-е сутки после перевивки.

Этические аспекты

Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с международным законодательством и действующими в Республике Беларусь нормативными правовыми актами по проведению экспериментальных исследований с лабораторными животными, а именно:

1. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (г. Страсбург, Франция, от 18.03.1986 г.) с изменениями в соответствии с положениями Протокола (СЕД № 170 от 02.12.2005 г.).
2. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (от 22.09.2010 г.).
3. ТПК 125–2008 «Надлежащая лабораторная практика» (GLP) (постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г.).

Лабораторных животных вводили в наркоз (нейролептаналгезия: 0,005% раствор фентанила + 0,25% раствор дроперидола, в соотношении 2:1, по 0,2 мл на 100 г массы тела, внутримышечно). После окончания периода наблюдения за лабораторными животными их умерщвление выполнялось с помощью общепринятых методов эвтаназии (*aether pro narcosis*) с соблюдением гуманных методов обращения с лабораторными животными.

Радиосенсибилизатор

В качестве радиосенсибилизирующего агента использовали ФС хлоринового ряда фотолон (РУП «Белмедпрепараты», г. Минск, Республика Беларусь), представляющий собой тринатриевую соль хлорина еб с повидоном К17. ФС представлял собой порошок лиофилизированный для приготовления раствора для внутривенного введения в виде пористой массы зеленовато-черного цвета, 100 мг (регистрационный номер 16/11/886 от 08.11.2016 г.). Введение ФС осуществлялось путем внутривенной инфузии в условиях затемненного помещения в дозе 2,5 мг/кг массы тела (согласно инструкции по медицинскому применению).

Сеанс контактной лучевой терапии

Воздействие ионизирующим излучением осуществляли однократно с помощью аппарата «microSelectron HDR V3 Digital» (Нидерланды) с источником излучения 192-Ir microSelectron V2. Облучение производили в разовых очаговых дозах (РОД) 5 и 10 Гр. Активность источника излучения на момент начала экспериментов составила 5,2 Ci. Время облучения составляло 73,1 сек и 146,2 сек, соответственно. Облучение начинали через 2,5–3 ч после окончания инфузии ФС (на модели ЛСП) и через 3,5–4 ч (на модели РС1). Время между окончанием инфузии ФС и началом сеансов облучения определены в рамках предшествующих исследований, показавших именно эти временные интервалы на перевивных опухолях как время достижения максимальной концентрации ФС в опухолевой ткани.

Дизайн исследования

Все воздействия производились по достижению диаметра опухолевого узла не менее 4–5 мм: на 7-е сутки после перевивки ЛСП и на 21-е сутки для РС1. Исследование было выполнено на 25 лабораторных животных, случайным образом распределенных на группы по 5 особей в каждой (для каждого из опухолевых штаммов). Характеристика экспериментальных групп представлена в табл. 1.

Таблица 1
Дизайн исследования
Table 1
Study design

№	Группа исследования Study groups
1	Интактный контроль Intact control
2	КЛТ, РОД 5 Гр CRT, single focal doses 5 Gy
3	КЛТ, РОД 10 Гр CRT, single focal doses 10 Gy
4	ФС фотолон 2,5 мг/кг + КЛТ, РОД 5 Гр PS photolon 2.5 mg/kg + CRT, single focal doses 5 Gy
5	ФС фотолон 2,5 мг/кг + КЛТ, РОД 10 Гр PS photolon 2.5 mg/kg + CRT, single focal doses 10 Gy

Критерии оценки противоопухолевой эффективности

Оценку противоопухолевой эффективности воздействий осуществляли по показателям, характеризующим динамику изменения объема (V), коэффициентом абсолютного прироста опухоли (K) и коэффициентом торможения роста опухолей (TPO).

Объем опухолей вычисляли по формуле (1):

$$V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3, \text{ где}$$

$d_{1,2,3}$ – три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли (в см);

$\pi/6 = 0,52$ – постоянная величина;

V – объем опухоли (в см^3).

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (K) рассчитывали по формуле (2):

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0}, \text{ где}$$

V_0 – исходный объем опухоли (до введения химиопрепарата);

V_t – объем опухоли на определенный срок наблюдения.

Коэффициент торможения роста опухоли (TPO) рассчитывали по формуле (3):

$$TPO\% = \frac{V_{\text{контроля}} - V_{\text{опыта}}}{V_{\text{контроля}}} * 100, \text{ где}$$

$V_{\text{контроль}}$ – средний объем опухоли в контрольной группе (см^3);

$V_{\text{опыт}}$ – средний объем опухоли в основной группе (см^3).

Количественные критерии оценки ингибирующего эффекта на перевивных опухолях у лабораторных животных были следующими (табл. 2) [17]:

Динамику роста перевивных опухолей регистрировали, начиная с 7-х суток после перевивки опухолевого штамма ЛСП и с 21-х суток для РС1 в течение 2 нед с интервалом 2–3 сут.

Частота полных регрессий (ПР) оценивалась через 60 суток после проведенных воздействий. В каждой группе оценивали относительное количество животных (%), у которых отсутствовали визуальные и пальпаторные признаки опухолевого роста [17].

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка экспериментальных данных и графическое представление результатов проводилась с помощью пакетов прикладных программ Excel 2010, Origin Pro (версия 7.0) и Statistica (версия 8.0). Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Для оценки достоверности различий использовали U критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Перевиваемость обеих моделей опухолей (ЛСП и РС1) у лабораторных животных составила 100%.

В ходе исследования проводили сравнение противоопухолевой эффективности КЛТ как самостоятельного вида терапевтического воздействия и комбинации КЛТ с применением ФС хлоринового ряда в качестве радиосенсибилизатора. Результаты оценки эффективности КЛТ после системного введения фотолонна на модели ЛСП представлены на рис. 1 и в табл. 3.

Как видно из представленных данных, КЛТ в РОД 5 Гр вызвала незначительное торможение роста перевивных опухолей, по сравнению с интактным контролем. Увеличение РОД до 10 Гр усиливало эффект КЛТ, однако отличия средних объемов опухоли ($V_{\text{ср}}$) в группах животных, подвергавшихся лучевому воздействию в дозах 5 Гр или 10 Гр, были статистически незначимы ($p = 0,69$).

Таблица 2
 Критерии оценки противоопухолевой эффективности
Table 2
 Evaluation criteria for antitumor efficacy

Критерии Criteria	Эффективность Efficacy
$TPO < 20\%$ $TGI < 20\%$	0
$TPO < 20-50\%$ $TGI < 20-50\%$	±
$TPO < 51-80\%$ $TGI < 51-80\%$	+
$TPO < 81-90\%$ $TGI < 81-90\%$	++
$TPO < 91-100\% + ПР < 50\%$ $TGI < 91-100\% + CR < 50\%$	+++
$TPO < 91-100\% + ПР > 50\%$ $TGI < 91-100\% + CR > 50\%$	++++

Примечание: *TPO – коэффициент торможения роста опухоли; ПР – полная регрессия.
 Note: *TGI – tumor growth inhibition; CR – complete regression

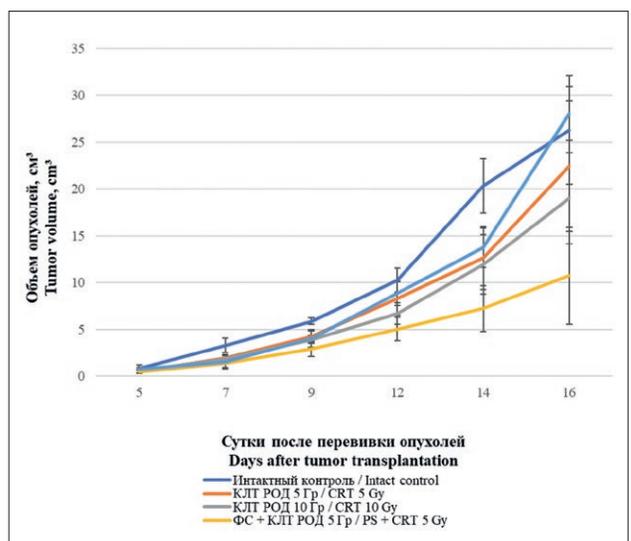


Рис. 1. Динамика роста перевивных опухолей модели ЛСП при исследуемых схемах терапевтического воздействия
Fig. 1. Dynamics of growth of transplanted tumors of the PLS model under the studied therapeutic regimens

Таблица 3

Эффективность лечения лабораторных животных с перевивными опухолями ЛСП

Table 3

Effectiveness of treatment of laboratory animals with transplantable PLS tumors

Наименование группы Groups	Показатели Indicators				
	V_{cp} опухоли до начала эксперимента, cm^3 Average tumor volume before experiments, cm^3	V_{cp} опухоли на 14-е сутки эксперимента, cm^3 Average tumor volume 14 days after the start of experiments, cm^3	К коэффициент абсолютного прироста опухолей Coefficient of absolute tumor growth	ТРО, % TGI, %	ПР, % CR, %
Интактный контроль Intact control	0,83±0,12	26,31±5,81	30,70	–	0
КЛТ РОД 5 Гр CRT 5 Gy	0,48±0,19	22,45±6,97	45,77	14,67	20
КЛТ РОД 10 Гр CRT 10 Gy	0,51±0,13	18,99±4,86	36,24	27,82	20
ФС + КЛТ РОД 5 Гр PS + CRT 5 Gy	0,46±0,15	10,75±5,18	22,37	59,14	60
ФС + КЛТ РОД 10 Гр PS + CRT 10 Gy	0,75±0,48	28,06±2,85	36,41	-6,65	20

Внутривенное введение фотолон в дозе 2,5 мг/кг массы тела с последующей КЛТ в РОД 5 Гр усиливало противоопухолевый эффект лучевого воздействия, по сравнению с КЛТ в той же РОД без сенсибилизатора. Так, на 14-е сутки после сеанса облучения в группе крыс, получавших комбинированное лечение, V_{cp} был в 2 меньше, чем в группе животных, подвергавшихся только КЛТ (10,75±5,18 cm^3 и 22,45±6,97 cm^3 , соответственно), хотя это отличие и не достигало статистически значимого уровня ($p=0,19$).

Внутривенное введение фотолон, предшествующее КЛТ в РОД 10 Гр не приводило к увеличению противоопухолевого эффекта лучевого воздействия, по сравнению с КЛТ в РОД 10 Гр без сенсибилизатора.

Таким образом, оптимальной схемой лечения на модели ЛСП являлось внутривенное введение фотолон в дозе 2,5 мг/кг массы тела с последующим, через 2,5–3 ч, однократным воздействием ионизирующим излучением в РОД 5 Гр. На 14-е сутки после сеанса лечения животных коэффициент К составил 22,37%, величина ТРО, по сравнению с интактным контролем – 59,14%, а частота ПР – 60%. Эффективность воздействия соответствовала «+» по полуколичественной шкале оценки (табл. 2).

Оценка эффективности комбинированного применения КЛТ и фотолон в качестве радиосенсибилизатора на модели РС1 у крыс показала следующее.

Как видно из данных, представленных на рис. 2 и в табл. 4, КЛТ в РОД 5 Гр вызывала статистически значимое торможение роста перевивных опухолей, по сравнению с интактным контролем: на 14-е сутки наблюдения V_{cp} у крыс в контрольной группе составил

4,48±1,03 cm^3 , в группе животных после сеанса КЛТ в РОД 5 Гр – 0,80±0,21 cm^3 . Повышение РОД облучения до 10 Гр приводило к увеличению противоопухолевой эффективности воздействия, а отличие величин V_{cp} в группах животных, получавших КЛТ в РОД 5 Гр и 10 Гр приближалось к уровню статистической значимости ($p=0,053$).

Внутривенное введение фотолон в дозе 2,5 мг/кг массы тела, предшествующее лучевому воздействию, существенно потенцировало противоопухолевый эффект КЛТ в РОД 5 Гр: на 14-е сутки после сеанса облучения V_{cp} в этой группе животных составил

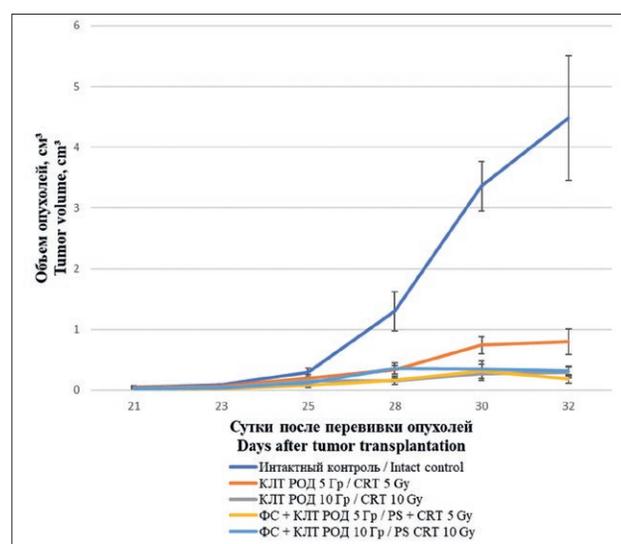


Рис. 2. Динамика роста перевивных опухолей модели РС1 при исследуемых схемах терапевтического воздействия
Fig. 2. Dynamics of growth of transplanted tumors of the RS1 model under the studied therapeutic regimens

Таблица 4

Эффективность лечения лабораторных животных с перевивными опухолями РС1

Table 4

Effectiveness of treatment of laboratory animals with transplantable RS1 tumors

Наименование группы Groups	Показатели Indicators				
	$V_{\text{ср.}}$ опухоли до начала эксперимента, см^3 Average tumor volume before experiments, см^3	$V_{\text{ср.}}$ опухоли на 14-е сутки эксперимента, см^3 Average tumor volume 14 days after the start of experiments, см^3	К коэффициент абсолютного прироста опухолей Coefficient of absolute tumor growth	ТРО, % TGI, %	ПР, % CR, %
Интактный контроль Intact control	0,05±0,02	4,48±1,03	88,60	–	0
КЛТ РОД 5 Гр CRT 5 Gy	0,04±0,02	0,80±0,21	19,00	82,14	0
КЛТ РОД 10 Гр CRT 10 Gy	0,03±0,01	0,29±0,09	8,67	93,53	20
ФС + КЛТ РОД 5 Гр PS + CRT 5 Gy	0,03±0,01	0,19±0,07	5,33	95,76	0
ФС + КЛТ РОД 10 Гр PS + CRT 10 Gy	0,03±0,01	0,32±0,08	9,67	92,86	0

0,19±0,07 см^3 . Отличия величин $V_{\text{ср.}}$ в группе крыс, которым перед КЛТ вводили фотолон, и в группе животных, получавших только КЛТ в РОД 5 Гр, статистически значимы ($p=0,022$).

Как и на модели ЛСП, у крыс с перевивной опухолью РС1 внутривенное введение фотолон, предшествующее КЛТ в РОД 10 Гр, не приводило к повышению терапевтической эффективности лучевого воздействия.

Таким образом, оптимальной схемой комбинированного лечения на модели РС1 у крыс является внутривенное введение ФС в дозе 2,5 мг/кг массы тела с последующим, через 3,5–4 ч, однократным воздействием ионизирующим излучением в РОД 5 Гр. На 14-е сутки наблюдения после сеанса лечения коэффициент К составил 5,33%, величина ТРО, по сравнению с контрольной группой животных – 95,76%. ПР опухоли после лечения у крыс с перевивной опухолью РС1 не зарегистрировано. Эффективность воздействия соответствовала «++» по полуколичественной шкале оценки.

Обсуждение

На данный момент актуальными и перспективными являются исследования, направленные на изучение радиосенсибилизирующих свойств различных классов ФС. Подавляющее число публикаций, посвященных рассмотрению данного направления, в рамках экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo*, посвящено таким ФС, как гематопротифин и фотофрин II [9–11].

Основные механизмы реализации противоопухолевого ответа при комбинированном применении

ЛТ и ФС изучены недостаточно. По мнению Shaffer M. и соавт., с одной стороны, ФС (на примере, фотофрина II) под влиянием ионизирующего излучения может усиливать радиолитический эффект за счет форм кислорода, образующихся в опухолевой клетке под влиянием самого излучения [18]. С другой стороны, ЛТ приводит к сублетальному и летальному повреждению опухолевых клеток. В дальнейшем сублетальные изменения носят, как правило, обратимый характер, связанный с реализацией механизмов восстановления функций опухолевой клетки. В случае активации фотофрин II ионизирующим излучением олигомерные компоненты указанного ФС, взаимодействуя со промежуточными свободными радикалами (гидроксильные радикалы), образовавшимися в опухолевой клетке при облучении, препятствуют развитию этих процессов и, следовательно, такая комбинация приводит к реализации противоопухолевых эффектов [18, 19].

Результаты экспериментальных исследований по изучению радиосенсибилизирующего эффекта фотосенсибилизирующих агентов представлены в ряде научных публикаций других авторов.

Так, в исследовании Kulka U. и соавт., выполненном на клеточных линиях рака мочевого пузыря RT4 и глиобластомы U-373 MG, была оценена эффективность комбинированного применения ионизирующего излучения в РОД от 2 до 8 Гр и фотофрина. Максимальный противоопухолевый эффект, выразившейся в статистически значимом уменьшении количества жизнеспособных опухолевых клеток, был отмечен при использовании ФС и облучения в РОД 6 и 8 Гр. Процент жизнеспособных опухолевых клеток U-373 MG в группах «ФС + РОД 6 Гр» и «ФС + РОД 8 Гр» соста-

вил $2,7 \pm 1,1\%$ и $0,2 \pm 0,1\%$, соответственно, и был статистически значимо меньше, чем при облучении с теми же параметрами без добавления в питательную среду ФС ($3,9 \pm 1,1\%$ и $0,5 \pm 0,2\%$, соответственно; $p < 0,05$). Процент жизнеспособных опухолевых клеток RT4 в группах «ФС + РОД 6 Гр» и «ФС + РОД 8 Гр» составил $4,7 \pm 2,3\%$ и $0,9 \pm 0,5\%$, соответственно, и был статистически значимо меньше, чем при облучении с теми же параметрами без добавления в питательную среду ФС ($6,7 \pm 2,2\%$ и $1,7 \pm 0,7\%$, соответственно; $p < 0,05$). Авторы пришли к выводу, что облучение опухолей, сенсibilизированных ФС и в максимальных концентрациях адсорбирующихся в митохондриях, приводит к образованию большого количества активных форм кислорода и, как следствие, инициации окислительного стресса, вызывающего летальные и сублетальные повреждения клеток путем апоптоза [20].

Shaffer M. и соавт., основываясь на результатах, полученных в экспериментах *in vivo* на линейных мышах с подкожной моделью рака мочевого пузыря RT4, пришли к выводу, что комбинированное использование фотофрина и ионизирующего излучения (10 Гр) позволяет увеличить время удвоения объема опухоли с 6,2 до 10,9 сут по сравнению с облучением в монорежиме ($p < 0,05$) [21].

Rutkovskienė L. и соавт. исследованы радиосенсибилизирующие свойства деривата гематопорфирина (1 мкг/мл) и темпорфина (0,1 мкг/мл) на культуре клеток глиомы С6. Облучение культуры клеток в монослое осуществляли γ -лучами с использованием кобальта-60 (мощность дозы 1,1 Гр/мин) с варьированием РОД от 2 до 8 Гр. Авторами показано, что применение ФС без облучения не оказывало токсического действия на глиому С6. Облучение без ФС в РОД 2 Гр сокращало количество жизнеспособных клеток на 20%, в СОД 4 Гр – на 50%. Радиосенсибилизация дериватом гематопорфирина в сочетании с облучением в СОД 2–8 Гр достоверно сокращало данный показатель по сравнению с группой облучения в монорежиме ($p < 0,05$). Темпорфин не проявил радиосенсибилизирующих свойств [22].

В исследованиях группы Schaffer M. и соавт. предпринимаются попытки апробации разработанных в эксперименте схем лечения у пациентов со злокачественными новообразованиями [10, 23–25].

В 2002 г. опубликованы результаты лечения 2 пациентов с нерезектабельным рецидивным раком мочевого пузыря. В качестве ФС использовался фотофрин II, а облучение (дистанционная ЛТ) проводилось в СОД $44,8 + 14$ Гр через 24 ч после введения ФС в дозе 1 мг/кг массы тела. Используемая методика позволила уменьшить объем опухолей на 35% и 40%, соответственно, и по окончании курса ЛТ выполнить оперативное вмешательство [23].

В 2006 г. Schaffer M. и соавт. представили опыт клинического применения фотофрина II в комбинации с

ЛТ у 12 пациентов (7 – с нерезектабельными солидными опухолями малого таза, 3 – со злокачественными глиомами, 1 – с рецидивом орофарингиальной карциномы, 1 – с рецидивом аденокарциномы сфеноидального синуса). Облучение (дистанционная ЛТ) производили в СОД 30–50,4 Гр через 24 ч после внутривенного введения ФС в дозе 1 мг/кг массы тела. Медиана наблюдения составила 12,9 мес. Серьезных нежелательных реакций отмечено не было. Частота ПР составила 33,3% (4 пациента), уменьшение объема опухоли на 45% и более – 33,3% (4 пациента) и стабилизация процесса – 33,3% (4 пациента). Только у 1 пациента через 5 мес после лечения отмечено возникновение локального рецидива заболевания [10].

В 2013 г. группой ученых опубликованы результаты лечения пациента с астроцитомой grade III с использованием дистанционной ЛТ (СОД 60 Гр) с предварительной внутривенной инфузией фотофрина II в дозе 1 мг/кг массы тела. Введение ФС производилось за 24 ч до начала облучения. Авторы отмечают длительный период наблюдения (106 мес) без прогрессирования заболевания, отсутствие нежелательных реакций и явлений [24].

В 2019 г. Schaffer P. и соавт. представили результаты лечения пациентки с карциномой шейки матки (FIGO IIIb ст.). В качестве ФС использовался фотофрин II, а облучение (дистанционная ЛТ) проводилось через 24 ч после введения ФС в дозе 1 мг/кг массы тела в СОД $50,4 + 14$ Гр (фракционированно; РОД 1,8–2 Гр ежедневно, 5 раз в неделю). Как сообщают авторы, локальный рецидив заболевания выявлен спустя 30 мес после окончания курса лечения (осуществлена гистерэктомия) [25].

Стоит отметить, что подавляющее количество исследований направлено на изучение противоопухолевой эффективности комбинированного применения ФС и дистанционной ЛТ. В доступных литературных источниках нами была найдена только одна публикация, посвященная использованию контактной ЛТ. А. Morandi и соавт. представили результаты комбинированного применения фотофрина II в дозе 3 мг/кг массы тела и интратканевой ЛТ. В качестве модели использовали солидную форму аденокарциномы молочной железы у линейных мышей BALB/c. Воздействие ионизирующим излучением осуществляли через 24 ч после окончания инфузии ФС в РОД 5 и 10 Гр. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении противоопухолевой эффективности интратканевой ЛТ при ее использовании с ФС [26].

Заключение

Пилотные данные, полученные на основании анализа непосредственных и отдаленных результатов экспериментального исследования на различных моделях перевивных опухолей у крыс, свидетельствуют

ют о явно выраженной тенденции к более высокому противоопухолевому эффекту комбинированного лечения, включающего применение ФС с последующим проведением сеансов КЛТ в определенных дозах облучения, по сравнению с КЛТ в монорежиме. Экспериментальных исследований, посвященных изучению эффективности комбинированного применения ФС хлоринового ряда и ионизирующего излучения, демонстрирующих положительные результаты, в доступных источниках литературы не представлено, что позволяет сделать вывод о необходимости и перспективности развития более глубоких исследований в данном направлении.

Экспериментальные исследования эффектов комбинированного лечения на лабораторных животных с перевивными опухолями будут продолжены с целью дальнейшей оптимизации режимов КЛТ с применением ФС хлоринового ряда в качестве радиосенсибилизатора.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований Национальной Академии наук Беларуси (грант № М19М-137, 2019–2021 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Церковский Д.А., Протопович Е.Л. Радиосенсибилизирующий эффект фотосенсибилизаторов (обзор результатов экспериментальных и клинических исследований) // Онкологический журнал. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 110–115.
2. Sokolov V.V., Filonenko E.V., Telegina L.V., Bulgakova N.N., Smirnov V.V. Combination of fluorescent imaging and local spectrophotometry in fluorescent diagnostics of early cancer of larynx and bronchus // *Quantum Electronics*. – 2002. – Vol. 32(11). – P. 963–969.
3. Sokolov Victor V., Chissov V.I., Filonenko E.V., Sukhin Garry M., Yakubovskaya R.I., Belous T.A., Zharkova Natalja N., Kozlov Dmitrij N., Smirnov V.V. Photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOGEN // *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*. – 1995. – Vol. 2325. – P. 367–374.
4. Filonenko, E.V. The history of development of fluorescence diagnosis and photodynamic therapy and their capabilities in oncology // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2015. – Vol. 85(1). – P. 211–216.
5. Sokolov Victor V., Chissov V.I., Filonenko E.V., Yakubovskaya R.I., Sukhin D.G., Galpern Maria G., Vorozhtsov Georgij N., Gulina A.V., Zhitkova M.B., Zharkova Natalja N., Kozlov Dmitrij N., Smirnov V.V. First clinical results with a new drug for PDT // *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*. – 1995. – 2325. – P. 364–366.
6. Семенов Д.Ю., Васильев Ю.Л., Дыдыкин С.С., Странадко Е.Ф., Шубин В.К., Богомазов Ю.К., Морохотов В.А., Щербюк А.Н., Морозов С.В., Захаров Ю.И. Антимикробная и антимикотическая фотодинамическая терапия (обзор литературы) // *Biomedical Photonics*. – 2021. – Т. 10(1). – С. 25–31. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31>
7. Филоненко Е.В., Трушина О.И., Новикова Е.Г., Зароченцева Н.В., Ровинская О.В., Иванова-Радкевич В.И., Каприн А.Д. Фотодинамическая терапия в лечении интраэпителиальных неоплазий шейки матки, вульвы и влагалища. // *Biomedical Photonics*. – 2020. – Т. 9(4). – С. 31–39. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2020-9-4-31-39>
8. Рахимжанова Р.И., Шаназаров Н.А., Туржанова Д.Е. Фотодинамическая терапия внутрикожных метастазов рака молочной железы (обзор литературы) // *Biomedical Photonics*. – 2019. – Т. 8(3). – С. 36–42. <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2019-8-3-36-42>
9. Kulka U. et al. Radiosensitization of tumours by porphyrins // *Cancer Lett*. – 2006. – Vol. 235. – P. 40–47.
10. Schaffer M. et al. Feasibility of photofrin II as a radiosensitizing agent in solid tumors – preliminary results // *Onkologie*. – 2006. – Vol. 29. – P. 514–519.

REFERENCES

1. Tzerkovsky D.A., Protopovich E.L. Radiosensitizing effect of photosensitizers (review of the results of experimental and clinical studies). *Oncological Journal*, 2018, Vol. 12(2), pp. 110–115 (in Russian).
2. Sokolov V.V., Filonenko E.V., Telegina L.V. et al. Combination of fluorescent imaging and local spectrophotometry in fluorescent diagnostics of early cancer of larynx and bronchus. *Quantum Electronics*, 2002, Vol. 32(11), pp. 963–969 (in Russian).
3. Sokolov Victor V., Chissov V.I., Filonenko E.V. et al. Photodynamic therapy of cancer with the photosensitizer PHOTOGEN. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 1995, Vol. 2325, pp. 367–374.
4. Filonenko, E.V. The history of development of fluorescence diagnosis and photodynamic therapy and their capabilities in oncology. *Russian Journal of General Chemistry*, 2015, Vol. 85(1), pp. 211–216.
5. Sokolov Victor V., Chissov V.I., Filonenko E.V., Yakubovskaya R.I. et al. First clinical results with a new drug for PDT. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 1995, Vol. 2325, pp. 364–366.
6. Semyonov D.Yu., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S. et al. Antimicrobial and antimycotic photodynamic therapy (review of literature). *Biomedical Photonics*, 2021, Vol. 10(1), pp. 25–31 (in Russian). <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2021-10-1-25-31>
7. Filonenko E.V., Trushina O.I., Novikova E.G. et al. Photodynamic therapy in the treatment of intraepithelial neoplasia of the cervix, vulva and vagina. *Biomedical Photonics*, 2020, Vol. 9(4), pp. 31–39 (in Russian). <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2020-9-4-31-39>
8. Rakhimzhanova R.I., Shanazarov N.A., Turzhanova D.E. Photodynamic therapy of intradermal metastatic breast cancer (literature review). *Biomedical Photonics*, 2019, Vol. 8(3), pp. 36–42 (in Russian). <https://doi.org/10.24931/2413-9432-2019-8-3-36-42>
9. Kulka U. et al. Radiosensitization of tumours by porphyrins. *Cancer Lett*, 2006, Vol. 235, pp. 40–47.
10. Schaffer M. et al. Feasibility of photofrin II as a radiosensitizing agent in solid tumors – preliminary results. *Onkologie*, 2006, Vol. 29, pp. 514–519.
11. Schaffer M. et al. Radiation therapy combined with photofrin or 5-ALA: effect on Lewis sarcoma tumor lines implanted in mice. Preliminary results. *Tumori*, 2002, Vol. 88, pp. 407–410.
12. Bloznelytė-Plėdionienė L. and Rutkovskienė L. Radiosensitized treatment of primary or metastatic malignant brain tumors with hematoporphyrin derivative. *Electron. Electric. Engineer*, 2006, Vol. 4(68), pp. 83–86.

11. Schaffer M. et al. Radiation therapy combined with photofrin or 5-ALA: effect on Lewis sarcoma tumor lines implanted in mice. Preliminary results // *Tumori*. – 2002. – Vol. 88. – P. 407–410.
12. Bloznelytė-Plėdrienė L. and Rutkovskienė L. Radiosensitized treatment of primary or metastatical malignant brain tumors with hematoporphyrin derivative // *Electron. Electric. Engineer*. – 2006. – Vol. 4(68). – P. 83–86.
13. Yamamoto J. et al. Radiosensitizing effect of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in glioma cells in vitro // *Oncol. Rep*. – 2012. – Vol. 27. – P. 1748–1752.
14. Санитарные правила и нормы 2.1.2.12–18–2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)», Постановление от 31.10.2006 г. № 131, г. Минск, Республика Беларусь.
15. Лимфосаркома Плисса [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/LSP/. – Дата доступа: 15.03.2021.
16. Холангиома (альвеолярный рак печени PC1) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/rs1/. – Дата доступа: 15.03.2021.
17. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ / Трещалина Е.М. и др. // В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей ред. член-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО изд. «Медицина», 2005 г. – 832 С. – С. 637–651.
18. Schaffer M. et al. The application of photofrin II as a sensitizing agent for ionizing radiation – a new approach in tumor therapy? // *Current Med. Chem*. – 2005. – Vol. 12. – P. 1209–1215.
19. Schaffer M. et al. Effect of Photofrin II as a radio-sensitizing agent in two different oesophageal carcinoma cell lines // *J. Porphyrins Phthalocyanines*. – 2005. – Vol. 9. – P. 470–475.
20. Kulka U. et al. Photofrin as a radiosensitizer in an in vitro cell survival assay // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. – 2003. – Vol. 311. – P. 98–103.
21. Shaffer M. et al. Photofrin as a radiosensitizing agent for tumors: studies in comparison to other porphyrins, in an experimental in vivo model // *J. Photochem. Photobiol. B*. – 2002. – Vol. 66(3). – P. 157–164.
22. Rutkovskienė L. et al. Sensitization of rat C6 glioma cells to ionizing radiation by porphyrins // *Acta Medica Lituanica*. – 2011. – Vol. 18(2). – P. 56–62.
23. Shaffer M. et al. Application of Photofrin II as a specific radiosensitizing agent in patients with bladder cancer – a report of two cases // *Photochem. Photobiol. Sci*. – 2002. – Vol. 1(9). – P. 686–689.
24. Schaffer M. et al. Treatment of astrocytoma grade III with Photofrin II as a radiosensitizer. A case report // *Strahlenther Onkol*. – 2013. – Vol. 189(11). – P. 972–976.
25. Shaffer P. et al. Treatment of cervix carcinoma FIGO IIIb with Photofrin II as a radiosensitizer: a case report // *Photochem. Photobiol. Sci*. – 2019. – Vol. 18(5). – P. 1275–1279.
26. Moradi A. et al. In vivo evaluation of photofrin II radiosensitivity for the treatment of adenocarcinoma tumors in balb/C mice using brachytherapy // *IFMBE Proceedings*. – 2009. – Vol. 25(1). – P. 141–143.
13. Yamamoto J. et al. Radiosensitizing effect of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in glioma cells in vitro. *Oncol. Rep*, 2012, Vol. 27, pp. 1748–1752.
14. Санитарные правила и нормы 2.1.2.12–18–2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)», Постановление от 31.10.2006 г. № 131, г. Минск, Республика Беларусь [Resolution No. 131 of 31.10.2006, Minsk, Republic of Belarus] (in Russian).
15. Лимфосаркома Плисса [Electronic source]. http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/LSP/. – Accessed: 15.03.2021 (in Russian).
16. Холангиома (al'veolyarnyj rak pečeni RS1) [alveolar liver cancer PC1] [Electronic source]. – Rezhim dostupa: http://www.bionco.ru/methods/exp_chemotherapy/strains/char_strains/rs1/. – Accessed: 15.03.2021 (in Russian).
17. Metodicheskie ukazaniya po izucheniju protivopuholevoj aktivnosti farmakologicheskikh veshhestv / Treshhalina E.M. i dr. // V kn.: Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv / pod obshhej red. chlen-korr. RAMN prof. R.U. Habrieva. – 2 izd., pererab. i dop. – M.: OAO izd. «Medicina» [2nd ed., reprint. and add. - M.: JSC ed. "Medicine"], 2005, Vol. 832 S, pp. 637–651 (in Russian).
18. Schaffer M. et al. The application of photofrin II as a sensitizing agent for ionizing radiation – a new approach in tumor therapy? *Current Med. Chem*, 2005, Vol. 12, pp. 1209–1215.
19. Schaffer M. et al. Effect of Photofrin II as a radio-sensitizing agent in two different oesophageal carcinoma cell lines. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2005, Vol. 9, pp. 470–475.
20. Kulka U. et al. Photofrin as a radiosensitizer in an in vitro cell survival assay. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 2003, Vol. 311, pp. 98–103.
21. Shaffer M. et al. Photofrin as a radiosensitizing agent for tumors: studies in comparison to other porphyrins, in an experimental in vivo model. *J. Photochem. Photobiol*, 2002, Vol. 66(3), pp. 157–164.
22. Rutkovskienė L. et al. Sensitization of rat C6 glioma cells to ionizing radiation by porphyrins. *Acta Medica Lituanica*, 2011, Vol. 18(2), pp. 56–62.
23. Shaffer M. et al. Application of Photofrin II as a specific radiosensitizing agent in patients with bladder cancer – a report of two cases. *Photochem. Photobiol. Sci*, 2002, Vol. 1(9), pp. 686–689.
24. Schaffer M. et al. Treatment of astrocytoma grade III with Photofrin II as a radiosensitizer. A case report. *Strahlenther Onkol*, 2013, Vol. 189(11), pp. 972–976.
25. Shaffer P. et al. Treatment of cervix carcinoma FIGO IIIb with Photofrin II as a radiosensitizer: a case report. *Photochem. Photobiol. Sci*, 2019, Vol. 18(5), pp. 1275–1279.
26. Moradi A. et al. In vivo evaluation of photofrin II radiosensitivity for the treatment of adenocarcinoma tumors in balb/C mice using brachytherapy. *IFMBE Proceedings*, 2009, Vol. 25(1), pp. 141–143.